

A written reply (PCT Article 34)

5. The contents of reply.

The examiner expressed an opinion that the present invention does not have inventive steps over the references 1 to 4, in his written opinion. We rebut against his opinion as in the followings:

There are big technical differences below between the present invention and the reference 1.

In the reference 1, it is essential to add exogenously 20 α -hydroxycholesterol, an intermediate of steroid synthesis, as a substrate to produce steroid hormone in ES cells stimulated by SF-1, as described in page 3998 left column lines 20 to 21 of "Material and Method" and page 4000 left column lines 5 to 4 from the bottom of "Material and Method" of the reference 1. In the reference 1, steroids are synthesized only in the presence of the intermediate of steroid synthesis.

As the reason why the intermediate is necessary in the reference 1, it is considered that a certain gene expression necessary for early stage of steroid synthesis is not induced by the stimulation of SF-1, therefore steroids is not produced in ES cells. On the other hand, when adding the intermediate, gene expression necessary for later stage of steroid synthesis might be induced in ES cells by SF-1, then steroids could be produced.

In contrast to the reference 1, all necessary gene expression for steroid synthesis are induced in mesenchymal stem cells as used in the present invention by the stimulation of SF-1 and said stem cells are differentiated into steroid-producing cells, as described in the description and Examples of the present patent application, to lead to produce steroids.

In the present invention, it is not necessary to add such intermediate as in the reference 1.

Namely, expression of all necessary genes for synthesis of steroids could be induced by SF-1 in mesenchymal stem cells, well-differentiated cells, but not in ES cells as in the reference 1.

In other words, it is neither described nor suggested in the references 1 to 4 that production of steroids by SF-1 stimulation without adding intermediates of steroid synthesis requires mesenchymal stem cells but not ES cells.

Therefore, the present invention cannot be easily reached from the description of the references 1 to 4.

答 弁 書

特許庁長官 殿

1. 國際出願の表示 PCT／JP2005／002548

2. 出願人

名 称 独立行政法人 科学技術振興機構

JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY

あて名 〒332-0012 日本国埼玉県川口市本町4-1-8

4-1-8, Honcho Kawaguchi-shi, Saitama 332-0012 JAPAN

国 種 日本国 Japan

住 所 日本国 Japan

3. 代理人

氏名 (11024) 弁理士 下田 昭



SHIMODA Akira

あて名 〒104-0031 東京都中央区京橋3丁目3番4号 京橋日英ビル4階

4kai, Kyobashi-Nichiei Biru, 3-4, Kyobashi 3-chome, Chuo-ku,
Tokyo 104-0031 JAPAN

電話：03-5205-6006、ファックス：03-5200-6007

4. 通知の日付 22. 03. 2005

5. 答弁の内容

見解書において、審査官殿は文献1～4を引用され、本願の発明は進歩性を有していないとの見解を示されました。これに対し下記の通り意見を述べます。

本願発明と文献1に示される技術との差異は以下の通りであります。

文献1においては、SF-1刺激によりES細胞にステロイドホルモンを合成させるためには、文献1の3998ページ左欄「MATERIAL AND METHOD」20～21行目や4000ページ左欄「MATERIAL AND METHOD」下から5～4行目に記載されているように、基質として、外部から合成中間体として20 α 水酸化コレステロール(20 α -hydroxycholesterol)を加えることが必須であり、このような合成

中間体を加えたときにのみステロイドが合成される。

この理由は、ES細胞をSF-1で刺激しても、ステロイド合成の初期に必要とされる遺伝子の誘導が起こらないため、ステロイドは合成されないためと考えられる。しかし合成中間体を加えてやれば、それ以降に必要な遺伝子群はES細胞で発現しているので、ステロイドが産生される。

しかし、本発明のように間葉系幹細胞を用いた場合、SF-1刺激でステロイド合成に必要なすべての遺伝子発現が誘導され、本願明細書及び実施例に記載されているように、自力でステロイドを合成する細胞へと分化でき、その結果ステロイドが合成される。本願発明においては、文献1のようなステロイドの合成中間体などは必要としない。

即ち、SF-1刺激によりステロイドの合成に必要なすべての遺伝子群を誘導するためには、文献1のようにES細胞を用いては不可能であり、分化の進んだ間葉系幹細胞を用いることによってのみ可能となるものである。

即ち、文献1～4には、ステロイドの合成中間体を必要とせずに、SF-1刺激によりステロイドを合成するには、ES細胞ではなく間葉系幹細胞を用いる必要があるということは記載も示唆もされていない。

従って、本願発明は、文献1～4の記載から容易に発明することができたものではありません。